昆 虫 学 报 *Acta Entomologica Sinica*, April 2005, 48(2):295 - 300 ISSN 0454-6296

# 家蚕催青前期胚胎蛋白质双向电泳图谱分析

颜新培[1], 钟伯雄[1*], 徐孟奎[1], 梁建设[2], 沈飞英[1]

(1. 浙江大学动物科学学院蚕蜂分子生物学实验室,杭州 310029;
2. 浙江大学生物化学有限公司,杭州 310029)

**摘要**:为了探讨家蚕 *Bombyx mori* 胚胎蛋白质整体变化,以多化性品种 P50 为材料,采用蛋白质双向电泳技术及图像分析技术分析了催青前期胚胎(戊$_3$ 以前)各个时期蛋白质图谱及其变化情况。研究发现:从临界Ⅱ期(丙$_2$)胚胎到缩短期(戊$_2$)胚胎蛋白质双向电泳图谱基本稳定,存在于临界Ⅱ期胚胎的蛋白斑点在催青前期的 4 个胚胎中消失的个数较少,仅占 22.80%,而在催青的最后 2 个胚胎中消失的蛋白质斑点却占 48.18%;在神经沟出现(丁$_1$)、腹肢突起(丁$_2$)、上唇突起(戊$_1$)和缩短期(戊$_2$)胚胎的双向电泳图谱中能够检测到 100 个特异蛋白质斑点,这些特异蛋白质斑点大多在随后邻近的胚胎发育中消失,暗示了这些特异蛋白可能与相应胚胎的形体特征发育有关。

**关键词**:家蚕;蛋白质;双向电泳;图谱分析;胚胎发育

**中图分类号**:S881.2 **文献标识码**:A **文章编号**:0454-6296(2005)02-0295-06

## Analysis of protein patterns from embryo of silkworm *Bombyx mori* at earlier stage by two dimensional polyacrylamide gel electrophoresis

YAN Xin-Pei[1], ZHONG Bo-Xiong[1*], XU Meng-Kui[1], LIANG Jian-She[2], SHEN Fei-Ying[1] (1. Laboratory of Molecular Biology of Silkworm and Honeybee, College of Animal Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; 2. Biochemistry Co. Ltd. of Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

**Abstract**: The proteins during earlier stages of embryo (before the head thorax differentiation embryo) and their changes were analyzed using silkworm *Bombyx mori* variety P50 as experimental material by two dimensional polyacrylamide gel electrophoresis and image analysis system to analyze the change of total proteins from silkworm embryo. It was discovered that two dimensional polyacrylamide gel electrophoresis patterns of protein from the critical development Ⅱ stage embryo to the shortening stage embryo stayed basically stable, and only a small number of the protein spots existed in the critical development Ⅱ stage embryo disappeared at four earlier embryo stages of incubation, which only accounted for 22.80%, but the protein spots which disappeared at 2 last embryos of incubation accounted for 48.18%; 100 different protein spots from the neural groove appearance, abdominal outgrowth appearance, labrum appearance and shortening stage embryo can be detected and most of these protein spots disappeared in the embryos closely followed. The results suggested these different proteins might relate to the characteristics of corresponding embryo body development.

**Key words**: *Bombyx mori*; protein; two dimensional electrophoresis; image analysis; embryo development

家蚕属于鳞翅目全变态昆虫,一生经过卵、幼虫、蛹和成虫 4 个形态功能完全不同的发育阶段。非滞育蚕卵和解除滞育蚕卵在 25℃条件下培养(催青),组织不断分化,器官不断形成,经 11 个形态特征明显不同的胚胎时期:临界Ⅱ期(丙$_2$)、神经沟出现(丁$_1$)、腹肢突起(丁$_2$)、上唇突起(戊$_1$)、缩短(戊$_2$)、头胸分化(戊$_3$)、反转(己$_1$)、毛瘤发生(己$_2$)、点青(己$_3$)、转青(己$_4$)和孵化(己$_5$)成为幼虫(中国农业科学院蚕业研究所,1990)。生产上将前 5 个胚胎时期定为催青前期,后 6 个胚胎时期定为催青后期。家蚕催青期胚胎发育是蚕体内一系列生理生化反应的体现,是控制胚胎发育的基因有序表达的结

基金项目:国家自然科学基金项目(30271004)

作者简介:颜新培,男,1966 年生,博士研究生,副研究员,研究方向为蛋白质组学,E-mail:yanxinpei@sina.com.cn

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail:bxzhong@zju.edu.cn

收稿日期 Received:2004-03-29;接受日期 Accepted:2004-07-01

果。

有关昆虫胚胎的体制决定和形态形成的基因调控，对双翅目果蝇研究得比较详尽，取得了许多开创性的成果。在昆虫中，胚轴（前后轴和背腹轴）特化后，体轴的建立具有 2 大特点：梯度的建立和间隔条带的形成。利用果蝇异常发育突变体作实验材料，研究了果蝇胚胎中控制早期胚胎发育的母体基因（Nüsslein-Volhard and Wieschaus, 1980）、规定体节数目和位置的分节基因（St Johnston and Nüsslein-Volhard, 1992）及影响体节分化、决定体节特征的同源异形基因（Lewis, 1978），发现早期胚胎发育主要受这 3 类基因调控，并且在果蝇的早期胚胎发育中，3 类基因相继作用，前一类基因的产物依次调节下一类基因的表达，形成一个调控等级网（或称调控阶梯）。家蚕的早期胚胎发育前人已做了相关研究，也存在着与果蝇相似的母体基因、分节基因和同源异形基因（Ueno *et al*., 1992；Xu *et al*., 1994；大西英尔等，1995）。

家蚕催青期胚胎形态特征的研究已非常详细，但有关基因表达调控的研究报道不多。通过对基因功能的体现者蛋白质的研究，可直接了解基因表达调控的某些规律，发现新的功能基因。本研究采用蛋白质双向电泳及图谱比较分析技术对家蚕催青前期胚胎蛋白质进行研究，分析了不同胚胎时期蛋白质图谱的变化，希望能为在分子水平上阐明家蚕胚胎发育的机理提供参考。

# 1 材料与方法

## 1.1 材料

家蚕品种：多化性品种 P50（大造），由西南农业大学鲁成教授和日本九州大学藤井博教授、伴野丰副教授提供。2003 年春季饲养制种后，采用即时浸酸方法解除滞育，25℃培养。

## 1.2 家蚕催青期胚胎蛋白质样品制备

不同发育时期家蚕胚胎蛋白质样品用顺序抽提法制备（Zhong *et al*., 2002；钟伯雄等，2003）。制备的胚胎蛋白质样品用 Bradford 法（詹显全等，2002）测定蛋白质浓度后，-20℃冷藏备用。

## 1.3 家蚕催青期蛋白质电泳

等电聚焦按照胶内加样方法进行（Görg *et al*., 2000），线性干胶条 pH 3～10、长度 24 cm，蛋白上样量 200 μg。SDS-PAGE 的分离胶浓度为 15%，浓缩胶浓度为 5%。蛋白质染色方法为银染（谢锦云等，2003）。

## 1.4 家蚕催青期胚胎蛋白质电泳图谱分析

蛋白质电泳图谱经图像扫描后，用 Amersham Biosciences 公司生产的 Imagemaster 2D 图像分析软件检测蛋白斑点，测定分子量、等电点和含量（贾宇峰等，2001）。蛋白斑点检测时参数设定为：灵敏度 200，算子大小 30，背景 0，噪声 5。

# 2 结果与分析

## 2.1 家蚕催青前期胚胎蛋白斑点的特征

家蚕催青以临界Ⅱ期胚胎（丙$_2$ 胚胎）为起点，在丙$_2$ 胚胎的蛋白质双向电泳凝胶图像中，共检测到 467 个蛋白斑点（图 1）。这些胚胎蛋白斑点的等电点在 3～10 之间，等电点 3～5 之间的酸性蛋白斑点、等电点 5～8 之间的中性蛋白斑点和等电点 8～10 之间的碱性蛋白斑点大约分别占总蛋白斑点的 15.20%（71/467）、79.66%（372/467）和 5.14%（24/467）；分子量在 14～94 kD 之间，20 kD 以下、20～70 kD 和 70 kD 以上的蛋白斑点大约分别占总蛋白斑点的 8.99%（42/467）、80.94%（378/467）和 10.06%（47/467）。

在随后的催青前期的每一个胚胎中都出现一些特异蛋白斑点，按其发育顺序，神经沟出现期胚胎（丁$_1$ 胚胎）、腹肢突起出现期胚胎（丁$_2$ 胚胎）、上唇突起出现期胚胎（戊$_1$ 胚胎）和缩短期胚胎（戊$_2$ 胚胎）分别出现 29 个、8 个、11 个和 52 个特异蛋白斑点（图 2、表 1），其中戊$_2$ 胚胎出现的特异蛋白斑点数最多。

## 2.2 家蚕胚胎发育过程中蛋白斑点的变化分析

对家蚕催青期各胚胎蛋白质双向电泳图谱比较分析（表 2）得知，存在于丙$_2$ 胚胎的 467 个蛋白斑点，从丁$_1$ 胚胎到己$_3$ 胚胎中依次消失（检测不到）的蛋白斑点个数为 14、6、14、10、8、11、18 和 19 个，合计 100 个蛋白斑点，在催青前期的 4 个胚胎中消失的个数较少，仅占 22.80%（44/193）；在己$_4$ 胚胎中消失 53 个蛋白斑点，在己$_5$ 胚胎中消失 40 个蛋白斑点，分别占总消失蛋白斑点的 27.46%（53/193）和 20.72%（40/193）；在催青的最后 2 个胚胎中合计消失的蛋白质斑点数高达 48.18%；另有 274 个蛋白斑点一直存在。

**表 1 家蚕催青前期胚胎特异蛋白斑点特征**

**Table 1 Characteristics of distinctive protein spots from embryo of silkworm at the earlier stages of incubation**

| 胚胎 Embryo stage | 蛋白斑点编号 Protein spot no. | 含量 Norm. vol. | 等电点 pI | 分子量 Molecular weight (kD) |
|---|---|---|---|---|
| **神经沟出现期(丁$_1$)** Neural groove appearance stage | 468 | 0.090 | 5.454 | 53.615 |
| | 469 | 0.071 | 5.614 | 59.905 |
| | 470 | 0.054 | 9.107 | 2.329 |
| | 471 | 0.135 | 6.060 | 26.887 |
| | 472 | 0.248 | 6.072 | 31.823 |
| | 473 | 0.416 | 6.303 | 33.010 |
| | 474 | 0.189 | 6.101 | 55.141 |
| | 475 | 0.108 | 6.119 | 53.751 |
| | 476 | 0.076 | 6.167 | 46.069 |
| | 477 | 0.063 | 5.953 | 46.370 |
| | 478 | 0.045 | 6.351 | 27.483 |
| | 479 | 0.061 | 6.808 | 27.972 |
| | 480 | 0.044 | 7.064 | 27.700 |
| | 481 | 0.041 | 8.365 | 26.456 |
| | 482 | 0.019 | 5.656 | 28.573 |
| | 483 | 0.143 | 8.008 | 18.744 |
| | 484 | 0.713 | 8.976 | 16.983 |
| | 485 | 0.218 | 9.018 | 28.191 |
| | 486 | 0.035 | 8.442 | 27.266 |
| | 487 | 0.218 | 8.941 | 44.810 |
| | 488 | 0.271 | 9.547 | 30.00 |
| | 489 | 0.023 | 9.428 | 29.945 |
| | 490 | 0.051 | 9.481 | 28.847 |
| | 491 | 0.022 | 8.133 | 28.628 |
| | 492 | 0.033 | 8.026 | 28.847 |
| | 493 | 0.233 | 8.264 | 30.220 |
| | 494 | 0.480 | 8.323 | 29.176 |
| | 495 | 0.121 | 8.085 | 36.086 |
| | 496 | 0.214 | 8.412 | 41.730 |
| **腹肢突起出现期(丁$_2$)** Abdominal outgrowth appearance stage | 497 | 0.327 | 5.508 | 36.869 |
| | 498 | 0.034 | 9.160 | 46.736 |
| | 499 | 0.088 | 5.406 | 30.922 |
| | 500 | 0.716 | 9.149 | 54.742 |
| | 502 | 0.027 | 9.020 | 34.921 |
| | 503 | 0.068 | 5.363 | 36.995 |
| | 526 | 0.018 | 7.586 | 70.905 |
| | 527 | 0.001 | 7.452 | 69.013 |
| **上唇突起出现期(戊$_1$)** Labrum appearance stage | 504 | 0.172 | 5.317 | 62.166 |
| | 505 | 0.253 | 6.425 | 3.998 |
| | 506 | 0.124 | 7.872 | 44.837 |
| | 507 | 0.088 | 8.686 | 31.184 |
| | 508 | 0.049 | 8.867 | 30.841 |
| | 509 | 0.044 | 6.284 | 42.713 |
| | 510 | 0.054 | 6.267 | 46.097 |
| | 511 | 0.028 | 6.193 | 44.837 |
| | 512 | 0.059 | 7.358 | 30.000 |
| | 513 | 0.015 | 7.341 | 29.398 |
| | 525 | 0.042 | 6.555 | 25.430 |
| **胚胎** Embryo stage | **蛋白斑点数** Protein spot no. | **含量** Norm. vol. | **等电点** pI | **分子量** Molecular weight (kD) |
| **缩短期(戊$_2$)** Shortening stage | 514 | 0.042 | 4.267 | 51.566 |
| | 515 | 0.136 | 5.804 | 98.817 |
| | 516 | 0.182 | 5.432 | 69.689 |
| | 517 | 0.209 | 5.038 | 58.567 |
| | 518 | 0.293 | 4.943 | 59.593 |
| | 519 | 0.165 | 4.730 | 34.427 |
| | 520 | 0.082 | 4.948 | 31.279 |
| | 521 | 0.106 | 4.810 | 25.709 |
| | 522 | 0.329 | 5.395 | 24.455 |
| | 523 | 0.093 | 5.916 | 24.604 |
| | 524 | 0.040 | 6.235 | 24.604 |
| | 528 | 0.102 | 7.862 | 57.546 |
| | 529 | 0.070 | 6.878 | 45.928 |
| | 530 | 0.035 | 6.963 | 47.591 |
| | 531 | 0.147 | 8.011 | 47.387 |
| | 532 | 0.131 | 8.043 | 46.022 |
| | 533 | 0.179 | 7.857 | 43.485 |
| | 534 | 0.176 | 8.027 | 43.567 |
| | 535 | 0.072 | 9.245 | 63.009 |
| | 536 | 0.093 | 9.133 | 58.567 |
| | 537 | 0.050 | 9.234 | 60.361 |
| | 538 | 0.096 | 8.904 | 55.853 |
| | 539 | 0.134 | 9.032 | 53.627 |
| | 540 | 0.106 | 8.458 | 44.320 |
| | 541 | 0.501 | 9.090 | 42.217 |
| | 542 | 0.009 | 9.484 | 45.406 |
| | 543 | 0.008 | 9.489 | 44.203 |
| | 544 | 0.242 | 6.618 | 27.230 |
| | 545 | 0.263 | 9.138 | 28.042 |
| | 546 | 0.117 | 9.335 | 4.1099 |
| | 547 | 0.024 | 8.373 | 41.529 |
| | 548 | 0.084 | 8.553 | 40.527 |
| | 549 | 0.020 | 8.378 | 39.994 |
| | 550 | 0.062 | 6.681 | 40.041 |
| | 551 | 0.027 | 6.681 | 40.598 |
| | 552 | 0.219 | 9.138 | 92.034 |
| | 553 | 0.101 | 8.973 | 91.174 |
| | 554 | 0.467 | 5.799 | 15.402 |
| | 555 | 0.240 | 5.793 | 16.245 |
| | 556 | 0.011 | 9.383 | 28.911 |
| | 557 | 0.165 | 7.851 | 15.125 |
| | 558 | 0.211 | 9.250 | 20.289 |
| | 559 | 0.116 | 5.070 | 34.531 |
| | 560 | 0.019 | 4.937 | 35.928 |
| | 568 | 0.017 | 9.372 | 29.102 |
| | 569 | 0.058 | 9.537 | 28.649 |
| | 570 | 0.067 | 9.537 | 34.065 |
| | 571 | 0.023 | 4.953 | 49.195 |
| | 575 | 0.019 | 6.107 | 101.257 |
| | 576 | 0.016 | 5.958 | 101.257 |
| | 593 | 0.039 | 7.245 | 92.503 |
| | 594 | 0.052 | 6.947 | 87.567 |

**表 2　家蚕胚胎发育过程中消失的蛋白斑点分析**

**Table 2　The disappeared protein spots from silkworm embryo during embryonic development**

| 胚胎<br>Embryo<br>stage | 丁$_1$ | 丁$_2$ | 戊$_1$ | 戊$_2$ | 戊$_3$ | 己$_1$ | 己$_2$ | 己$_3$ | 己$_4$ | 己$_5$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 丙$_2$ | 61 79<br>121 124<br>234 238<br>270 272<br>280 284<br>286 335<br>365 449 | 249 265<br>276 282<br>301 312 | 13 14<br>15 19<br>26 27<br>58 62<br>80 243<br>369<br>378<br>448<br>450 | 30 45<br>47 86<br>123 240<br>279 325<br>414 417 | 92 167<br>348<br>349<br>355<br>412<br>417<br>442 | 46 118<br>201 217<br>219 230<br>232 253<br>260 285<br>426 | 57 70 71<br>223 233<br>251 266<br>267 268<br>269 252<br>304 379<br>423 425<br>435 437<br>446 | 53 67 96<br>134 144<br>152 224<br>226 250<br>262 295<br>316 337<br>354 368<br>388 395<br>419 421 | 31 54 55 82 72<br>73 74 75 76 82<br>88 90 104 106<br>117 132 139 141<br>169 174 181 182<br>185 193 194 196<br>198 202 204 215<br>216 236 241 256<br>261 326 330 356<br>361 362 376 381<br>386 387 392 429<br>431 440 441 444<br>445 447 459 | 28 29 59 60 63<br>64 68 84 92 93<br>107 114 130<br>135 136 137<br>166 173 180<br>254 264 271<br>273 274 283<br>287 288 289<br>299 303 311<br>313 315 350<br>397 443 454<br>463 465 466 |
| 丁$_1$ | | 470 471<br>472 474<br>475 476<br>477 479<br>480 481<br>482 483<br>485 486<br>487 488<br>489 490<br>491 492<br>495 496 | 469<br>478 | 473 | 468 | 484 493<br>494 | | | | |
| 丁$_2$ | | | 498<br>499<br>500<br>502 | 503 | | 497 526<br>527 | | | | |
| 戊$_1$ | | | | 509<br>510<br>511<br>525 | 504<br>505<br>507<br>508<br>512<br>513 | 506 | | | | |
| 戊$_2$ | | | | | 514<br>517<br>518<br>521<br>522<br>530<br>540<br>542<br>543<br>555<br>556<br>568<br>569<br>546<br>571 | 516 520<br>523 524<br>531 532<br>534 535<br>536 538<br>544 545<br>547 548<br>549 552<br>553 558<br>560 570 | 533 537<br>539 541<br>554 557<br>593 594 | 515 551<br>559 575<br>576 | 528 529 550 | 519 |

丙$_2$：临界Ⅱ期 Critical development Ⅱ；丁$_1$：神经沟出现 Neural groove appearance；丁$_2$：腹肢突起 Abdominal outgrowth appearance；戊$_1$：上唇突起 Labrum appearance；戊$_2$：缩短 Shortening；戊$_3$：头胸分化 Head thorax differentiation；己$_1$：反转 Embryonic reverse；己$_2$：毛瘤发生 Tubercle appearance；己$_3$：点青 Head pigmentation；己$_4$：转青 Body pigmentation；己$_5$：孵化 Hatching.

在丁$_1$、丁$_2$、戊$_1$ 和戊$_2$ 各个胚胎的特异蛋白斑点中,蛋白斑点出现后马上在下一个胚胎消失的蛋白斑点数分别为 22、4、4 和 15 个,分别占各自胚胎特异蛋白斑点数的 75.86%、50%、36.4% 和 28.84%,戊$_1$ 和戊$_2$ 胚胎出现的特异蛋白斑点在特异斑点出现后第 2 个胚胎消失的蛋白斑点数分别为 6 个和 20 个,分别占各自胚胎特异蛋白斑点数的 54.54% 和 38.46%(表 2)。可见在催青前期 4 个胚胎中出现的特异蛋白斑点在下一个胚胎消失的比率依发育进程减少,但大多在前两个胚胎消失;各个胚胎在下一个胚胎消失的特异蛋白斑点可能与该胚胎阶段的形态形成相关。

## 3 讨论

家蚕胚胎解除滞育进入生长发育的过程,是家蚕基因组从休止到激活,进入顺序表达的一系列生理生化反应的体现。用连续发育的家蚕催青期胚胎为材料,采用双向电泳技术,获得了家蚕催青期各个胚胎蛋白质表达谱(颜新培等,2004)。本研究发现在丙$_2$ 胚胎检测到的 467 个蛋白斑点中,共有 193 个蛋白在胚胎发育过程中消失,其特征是在己$_4$ 胚胎以前的发育过程中消失的个数较少,在己$_4$、己$_5$ 胚胎期消失的个数略多。这说明在催青前期,胚胎蛋白质的变化较小,这结果与已有的研究结论相似(钟伯雄,1999)。丙$_2$ 胚胎蛋白质的变化,说明催青期的 11 个胚胎中,己$_4$、己$_5$ 胚胎的生理代谢活动可能与其他胚胎差异较大,从蚕体解剖结果得知,己$_4$、己$_5$ 胚胎是吞食浆膜和卵黄及蚁体形成时期,暗示了维持胚胎生命活动的基因与维持蚕体生命活动的基因可能有较大的不同。另外,从丙$_2$ 胚胎到己$_5$ 胚胎一直存在的 274 个蛋白斑点,可能是整个胚胎发育时期都必需的蛋白质,大多数可能是结构蛋白。

研究发现在丁$_1$、丁$_2$、戊$_1$ 和戊$_2$ 胚胎阶段都出现一些特异蛋白斑点,而且这些蛋白斑点大部分在随后邻近的胚胎发育中消失,这结果暗示了这些蛋白或进一步加上对应胚胎时期存在的丙$_2$ 胚胎特异蛋白,可能与相应胚胎的形体特征发育有关,或进一步影响邻近胚胎的形体特征发育。如果能够对这些特异蛋白进行序列分析,将有利于了解这些蛋白的生理功能,为阐明家蚕胚胎生长发育的分子机理提供信息。

## 参考文献(References)


Görg A, Obermaier C, Boguth G, Harder A, Scheibe B, Wildgruber R, Weiss W, 2000. The current state of two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradient. *Electrophoresis*, 21:1 037 - 1 053.

Jia YF, Lin QX, Guo YJ, Guo Y, Liu SJ, 2001. The image analysis of two dimensional gel electrophoresis. *Prog. Biochem. Biophys.*, 28(2): 246 - 250. [贾宇峰,林秋霞,郭尧君,郭鹞,刘少君,2001. 蛋白质双向电泳图像分析. 生物化学与生物物理进展, 28(2):246 - 250]

Lewis EB, 1978. A gene complex controlling segmentation in *Drosophila*. *Nature*, 276 (5 688):565 - 570.

Nüsslein-Volhard C, Wieschaus E, 1980. Mutations affecting segment number and polarity in *Drosophila*. *Nature*, 287(5 785):795 - 801.

Ohnishi E, Sonobe H, Takahasi S, 1995. Insect Biochemistry and Molecular Biology. Nagoya: Nagoya University Press. 301 - 315. [大西英尔,园部治之,高桥进,1995. 昆虫生化学·分子生物学. 名古屋:名古屋大学出版社. 301 - 315]

St Johnston D, Nüsslein-Volhard C, 1992. The origin of pattern and polarity in the *Drosophila* embryo. *Cell*, 68(2):201 - 219.

The Sericultural Research Institute Academy of Agricultural Sciences, 1990. The Sericultural Science in China. Shanghai Scientific and Technical Publishers. 384 - 391. [中国农业科学院蚕业研究所主编,1990. 中国养蚕学. 上海科学技术出版社. 384 - 391]

Ueno K, Hui C, Fukuta M, Suzuki Y, 1992. Molecular analysis of the deletion mutants in the E homeotic complex of the silkworm *Bombyx mori*. *Development*, 114(3):555 - 563.

Xie JY, Li XL, Chen P, Cao ML, Chen LB, Liang SP, 2003. Preliminary proteomic analysis of the proteins of thermo-sensitive genetic sterile rice anther. *Chin. J. Biochem. Mol. Biol.*, 19(2):215 - 221. [谢锦云,李小兰,陈平,曹梦林,陈良碧,梁宋平,2003. 温敏核不育水稻花药蛋白质组初步分析. 中国生物化学与分子生物学报, 19(2):215 - 221]

Xu X, Xu PX, Suzuki Y, 1994. A maternal homeobox gene, *Bombyx caudal*, forms both mRNA and protein concentration gradients spanning anteroposterior axis during gastrulation. *Development*, 120:277 - 285.

Yan XP, Zhong BX, Cao JS, Xu MK, Shen FY, Yao GH, 2004. Establishment of 2D-PAGE protein patterns of silkworm embryo during incubating stage. *Acta Seric. Sin.*, 30(1):28 - 33. [颜新培,钟伯雄,曹家树,徐孟奎,沈飞英,姚国华,2004. 家蚕催青期胚胎蛋白质图谱的建立. 蚕业科学,30(1):28 - 33]

Zhan XQ, Guan YJ, Li C, Chen ZC, Xie JY, Chen P, Liang SP, 2002. Differential proteomic analysis of human lung adenocarcinoma cell line A-549 and normal cell line HBE. *Acta Biochim. Biophy. Sin.*, 34(1):50 - 56. [詹显全,关勇军,李萃,陈主初,谢锦云,陈平,梁宋平,2002. 人肺腺癌细胞 A-549 和正常细胞 HBE 的蛋白质组差异分析. 生物化学与生物物理学报,34(1):50 - 56]

Zhong BX, 1999. Characterization and stage-specific change of proteins during the embryonic development of silkworm *Bombyx mori*. *Acta Genetica Sinica*, 26(6):627 - 633. [钟伯雄,1999. 家蚕胚胎发育时期的蛋白质变化及构造分析. 遗传学报, 26(6):627 - 633]

Zhong BX, Weng HB, Fang WH, 2002. Preparation of protein samples for gel electrophoresis by sequential extraction. *J. Zhejiang Univer. Sci.*, 3(5):606 - 610.

Zhong BX, Yan HY, Shen FY, Li JK, Zhou L, 2003. Preparation of silkworm protein using two dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. *Acta Seric. Sin.*, 29(4):427 - 432. [钟伯雄,颜海燕,沈飞英,李建科,周丽, 2003. 家蚕蛋白质双向电泳的样品制备方法. 蚕业科学,29(4):427 - 432]


(责任编辑:黄玲巧)